

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H05081

研究課題名（和文）低エントロピー反応空間での短寿命複合体制御を起点とする有機分子触媒化学の変革

研究課題名（英文）The Utilization of Highly Active Intermediates in the Low Entropy Reaction Space toward Innovation of Organic Molecular Catalysis

研究代表者

布施 新一郎 (Shinichiro, Fuse)

名古屋大学・創薬科学研究科・教授

研究者番号：00505844

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 25,200,000円

研究成果の概要（和文）：触媒反応開発において短寿命の不安定複合体の利用は忌避されてきた。これは、反応の進行に伴って複合体が分解などを起こし、収率低下につながるリスクが高いためであるが、本研究では、この不安定複合体を用いる反応を詳細に解析し、学術的な知見蓄積と反応設計原理の探求を進めた。具体的には有機分子触媒を用いるペプチドの環化反応に焦点を当て、反応剤、溶媒等が反応に与える影響を明らかにした。また、開発した環化法は副反応のリスクの高い鎖状ペプチドや環化しにくい鎖状ペプチドの環化に有効であることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質を構成するアミノ酸以外のアミノ酸からなり、環状構造をもつ特殊環状ペプチドは医薬品として脚光を浴びている。これは標的生体分子に対する親和性や選択性、代謝安定性の向上が見込まれ、細胞膜透過性や経口投与性さえももつときがあるためである。一方で特殊環状ペプチドの合成には副反応の競合が問題となることが多く、反応性の低さから、長時間、高温条件、過剰量の反応剤の利用を要することが多い。開発した手法では、マイクロフロー合成法を駆使することにより、安価で廃棄物の少ない入手容易な反応剤を用いて、短時間、穏和な条件で特殊環状ペプチドを得ることに成功したため、今後のペプチド創薬加速への貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：The use of short-lived unstable complexes has been avoided in catalytic reaction development. This is because there is a high risk of decomposition of the complex during the progression of the reaction, leading to decreased yields. In this study, we conducted a detailed analysis of reactions using these unstable complexes and advanced the accumulation of knowledge and exploration of reaction design principles. Specifically, we focused on the cyclization reaction of peptides using organic molecule catalysts, revealing the influence of reactants, solvents, and other factors on the reaction. Furthermore, the developed cyclization method proved to be effective for cyclization of linear peptides with high risk of side reactions and difficult-to-cyclize linear peptides.

研究分野：有機合成化学

キーワード：不安定活性種 ペプチド環化 特殊環状ペプチド アシルアンモニウム

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

触媒反応開発において短寿命の不安定複合体の利用は忌避されたきた。これは、反応の進行に伴って複合体が分解などを起こし、収率低下につながるリスクが高いためであり、また、その追跡も容易ではないことから不安定活性種を用いる触媒反応についての知見は十分に蓄積されているとは言い難い状況であった。基礎化学的な知見のさらなる獲得と、その知見を基盤とした高効率反応の開発が望まれていた。

### 2. 研究の目的

上述の状況を鑑み、本研究では、律速段階直前の不安定複合体に焦点を当て、複合体を高秩序かつ均一に生成させて反応を詳細に解析し、学術的な知見蓄積と反応設計原理の探求を進めることを目的とした。具体的には、有機分子触媒を用いるペプチドの環化反応を開発対象として、研究を進めることとした。

### 3. 研究の方法

不安定活性種を副反応を抑制しつつ扱うため、微小流路を反応場とするマイクロフロー合成法を利用することとした。マイクロフロー合成法では、マイクロミキサーによる高速混合によりバッチ合成法では不可能な数ミリ秒以内での溶液の混合が可能であるため、短時間（1秒未満）の反応を精密に制御できる。また、反応チューブの比表面積の大きさから、熱交換効率が高く、反応温度も精密に制御できる。このマイクロフロー合成法を用いて、まずC、N両末端遊離の鎖状ペプチドのC末端、N末端にそれぞれ対応するアミノ酸をモデル基質としてアシル化反応を検討し、アシル化剤、アミン触媒、溶媒等が反応に与える影響を検討することとした。また、開発した不安定な活性種を用いる環状ペプチドの合成法がどれほどの実用性をもつかについて検証するため、基質適用範囲について調査することとした。

### 4. 研究成果

アミノ酸モデル基質を用いた検討の結果、興味深いことに、メチル基を2つ以上有する脂肪族アミンとクロロギ酸イソプロピルを用いると、C末選択的に反応が進行することが明らかになった。この知見はこれまでのペプチド環化での常識に反するものである。ペプチド環化においては反応性の高い求電子剤を用いると、望むC末のみならず、望まないN末においても反応が進行してしまうため、反応性の低い求電子剤を用いることが望ましいと長年いわれてきた (F. Albericio, J. M. Bofill, A. El-Faham, S. A. Kates, *J. Org. Chem.* 63, 9678, (1998); A. El-Faham, F. Albericio, *Chem. Rev.* 111, 6557, (2011); F. Albericio, A. El-Faham, *Org. Process Res. Dev.* 22, 760, (2018) )。上述の脂肪族アミンとクロロギ酸イソプロピルの組み合わせでは、嵩の低い脂肪族アミンが速やかにクロロギ酸イソプロピルに求核攻撃を起こし、高い求電子性をもつアシルアンモニウムイオンが生じると考えられる。これにも関わらず、N末での反応が抑えられ、C末で優先的に反応が進行す

る原因として、カルボキシラートとアシルアンモニウムイオンのイオン性の相互作用を考えている。また、異なる嵩高さのアミノ酸モデル基質を用いた検討により、C末、N末の嵩高さがC末選択性に及ぼす影響を明らかにした。また、溶媒についても検討したところ、多くの溶媒を使用できることがわかり、これは様々な鎖状ペプチドを基質として使用する上で有利に働くものと考えられた。

実際のペプチド環化に同定した反応条件を適用したところ、短時間、穏和な条件下で良好な収率で目的の環化体が得られることがわかった。当初の予想以上の高成績が得られたことから、開発した環化法をさらに環化難度が高い基質を用いた環化反応に適用した。具体的には、側鎖に遊離の水酸基を有する残基を含むペプチド、エピメリ化の危険性が高い残基をC末に含む鎖状ペプチド、二量化が進行しやすい鎖状ペプチドを標的として選定し、開発した手法の基質適用範囲の限界を探った。その結果、遊離水酸基を含むペプチドの環化に成功し、環化難度が高い4、5残基の環状*N*-メチル化ペプチドの合成にも成功した。開発した環化反応は既存の手法と比べて明らかにエピメリ化や二量化を惹起しにくく、高速で目的の反応を進行させられることがわかった。

開発した手法においては、二量化を惹起しにくいため、通常ペプチド環化において多用される高希釈条件を用いずとも反応を実施可能であった。このため、最大 22400 倍以上もの生産性の向上を達成した。さらには、廃棄物量の大幅な削減にも成功した。加えて、versicotide D 類縁体の合成においては、過去に報告された化合物の立体化学が誤っていることを突き止めた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 H. Masui, S. Fuse	4. 巻 26
2. 論文標題 Recent advances in the solid- and solution-phase synthesis of peptides and proteins using micro-flow technology	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Org. Process Res. Dev.	6. 最初と最後の頁 1751-1765
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.oprd.2c00074	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 H. Masui, S. Fuse	4. 巻 80
2. 論文標題 Micro-flow N-acylation using highly electrophilic acyl ammonium cations for peptide and urethane-protected N-carboxyanhydride synthesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Synth. Org. Chem. Jpn.	6. 最初と最後の頁 986-993
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5059/yukigoseikyokaishi.80.986	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 布施 新一郎	4. 巻 41
2. 論文標題 特殊中分子ペプチド医薬のマイクロフロー合成	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 39-44
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 R. Okabe, N. Sugisawa, S. Fuse	4. 巻 20
2. 論文標題 Micro-flow rapid dual activation approach for the urethane-protected $\alpha$ -amino acid N-carboxy anhydride synthesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Org. Biomol. Chem.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D20B00167E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 O. Shamoto, K. Komuro, N. Sugisawa, T-H. Chen, H. Nakamura, S. Fuse,	4. 巻 62
2. 論文標題 Peptide cyclization by the use of acylammonium species	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 e202300647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202300647	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 S. Fuse, R. Okabe	4. 巻 26
2. 論文標題 Switchable synthesis of 7- and 14-membered cyclic peptides containing N-methyl- and -amino acids utilizing micro-flow technology	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 e202300700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ejoc.202300700	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Miyamoto, R. Okabe, S. Fuse,	4. 巻 28
2. 論文標題 Facile generation of t-butoxycarbonyl chloride equivalent and its use in micro-flow reactor	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Orgic Process Research and Development	6. 最初と最後の頁 1971-1978
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.oprd.4c00009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 N. Sugisawa, A. Ando, S. Fuse,	4. 巻 14
2. 論文標題 Rapid and column-chromatography-free peptide chain elongation via a one-flow, three-component coupling approach	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 6986-6991
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D3SC01333B	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計25件（うち招待講演 15件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 社本乙華、小室敬史、杉澤直斗、中村浩之、布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフローリアクター内での環状ペプチド合成法の開発
3. 学会等名 創薬懇話会2022 in 名古屋
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 フロー・自動合成、機械学習技術が駆動する創薬の革新
3. 学会等名 令和4年度生命科学・創薬研究支援基盤事業BINDSシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 フロー化学を通じた古典的活性種の理解と応用
3. 学会等名 第38回有機合成化学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Fuse
2. 発表標題 Micro-flow synthesis of specialty peptides
3. 学会等名 Flow Chemistry Asia 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Fuse
2. 発表標題 Micro-flow synthesis of peptide
3. 学会等名 The 59th Japanese Peptide Symposium (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Fuse
2. 発表標題 Micro-flow synthesis of peptide
3. 学会等名 The 22nd Tateshina Conference on Organic Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 古くて新しい高求電子性反応剤を用いるマイクロフロー合成法の開発
3. 学会等名 第39回メディシナルケミストリーシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Fuse
2. 発表標題 Micro-flow synthesis of peptide
3. 学会等名 International Microreaction Technology Conference (IMRET16) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 S. Fuse
2. 発表標題 Micro-flow synthesis of peptide
3. 学会等名 GRAMS-KOREA Symposium on Microchemistry 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shinichiro Fuse
2. 発表標題 Highly efficient amide bond formation using micro-flow technology
3. 学会等名 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡部 蓮、杉澤直斗、布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフローリアクター内での迅速な両基質同時活性化を駆使したウレタン保護-N-カルボン酸無水物の合成
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 社本乙華、小室敬史、杉澤直斗、中村浩之、布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフローリアクター内での環状ペプチド合成法の開発
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフロー合成法が駆動する特殊ペプチド創薬の革新
3. 学会等名 日本薬学会第142年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 フロー・自動合成、機械学習技術が駆動する有機合成の革新
3. 学会等名 第5回中堅・若手リーダーのためのYUGOKAFé NExT（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 古典的な新輝不老反応の開発を目指して
3. 学会等名 第56回天然物化学談話会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 ペプチドの超高速マイクロフロー合成
3. 学会等名 ITbM/GTRコンソーシアム第11回ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 布施 新一郎
2. 発表標題 超高効率マイクロフローペプチド合成法の開発
3. 学会等名 低エントロピー反応空間が実現する高秩序触媒化学2023年度領域講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 布施 新一郎
2. 発表標題 マイクロフロー合成法を駆使する超高効率ペプチド合成手法の開発
3. 学会等名 富山県立大学生物・医薬品工学研究センターセミナー 医薬品製造のDx 第一回 セミナー（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 S. Fuse
2. 発表標題 Rapid and column-chromatography-free flow-peptide chain elongation
3. 学会等名 Flow Chemistry Asia 2023（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮本 佳奈、岡部 蓮、布施 新一郎
2. 発表標題 マイクロフローを駆使する連続的迅速活性種スイッチング法の開発
3. 学会等名 第13回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 布施 新一郎
2. 発表標題 フロー・自動合成、機械学習技術が駆動する有機合成の革新
3. 学会等名 第37回農薬デザイン研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 布施 新一郎
2. 発表標題 古典的な新輝不老反応の開発を目指して
3. 学会等名 化学プロセス研究コンソーシアム2023年度第2回全体会議（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 布施 新一郎
2. 発表標題 新輝不老反応の開発を目指して
3. 学会等名 東海コンファレンス2023 in 岡崎（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 宮本 佳奈、岡部 蓮、布施 新一郎
2. 発表標題 マイクロフローリアクターを用いたt-ブチルオキシクロリドおよびその等価体の迅速合成と利用法開発
3. 学会等名 日本化学会第104春季年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 N. Sugisawa, A. Ando, S. Fuse
2. 発表標題 Development of rapid peptide chain elongation via a three-component coupling approach
3. 学会等名 日本化学会第104春季年会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 環状アミドの製造方法	発明者 布施新一郎, 社本乙華	権利者 国立大学法人東海国立大学機構
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-080477	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 環状アミドの製造方法	発明者 布施新一郎, 社本乙華	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-035707	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>プロセス化学分野HP  <a href="https://www.ps.nagoya-u.ac.jp/lab_pages/chemprocess/">https://www.ps.nagoya-u.ac.jp/lab_pages/chemprocess/</a>            低エントロピー反応空間が実現する高秩序触媒化学領域HP  <a href="https://www.chem.s.u-tokyo.ac.jp/users/synorg/lowentropy/index.html">https://www.chem.s.u-tokyo.ac.jp/users/synorg/lowentropy/index.html</a>            名古屋大学創薬科学研究科 基盤創薬学専攻プロセス化学分野  <a href="http://www.ps.nagoya-u.ac.jp/lab_pages/chemprocess/">http://www.ps.nagoya-u.ac.jp/lab_pages/chemprocess/</a></p>
---

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------